

Aktenzeichen: 199237840

C. Schäfer
Im Auftrag
Der Präsident

Deutsches Patent- und Markenamt

München, den 1. Februar 2000

B 01 F und C 12 P der Internationalen Patentklassifikation erhalten.
Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole

Das angehobene Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Zeichnung dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung ist auf die Cognis Deutschland GmbH in Düsseldorf/Deutschland umgezeichnet worden.

am 25. Mai 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

„Verwendung von Mikromulsioen in Fermentationsverfahren“

Patentanmeldung unter der Bezeichnung
Die Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien in Düsseldorf/Deutschland hat eine

4 0200 91 08 Bescheinigung

PRIOERTY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 19 JUL 2000	WIPO	PCT
-------------------	------	-----

4 0200
BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

000004364

Für die Entwicklung und Optimierung von Fermentationstechniken ist insbesondere das Reaktionsmedium, in dem die mikrobiologische Umwandlung stattfindet, von Bedeutung. Das Reaktionsmedium, in aller Regel eine wässrige Lösung oder Dispersion, beeinflusst insbesondere die Ausbeute und Effizienz des Verfahrens. Die Mikroorganismen benötigen Nährstoffe Kohlenstoff, Stärke und bestimmt Spurenstoffe in gebundener Form, z.B. Calcium, Eisen, Phosphor oder Zink, um eine erfolgreiche Metabolisierung zu den gewünschten Produkten möglich zu machen. Weiterhin muss regelmäßig ein bestimmt, meistens enger Temperatur- und pH-Bereich eingehalten werden. Zu weiteren Einzelheiten sei hier auf das Lehrbuch von W. Crugeier, Biotechnologie - Lehrbuch der Biotechnologie Kapitel 5 dieses Werkes beschriftet sich mit den Grundlagen der Fermentationstechnik. Diese Literaturstelle gehört daher auch ausdrücklich zur Offenbarung der vorliegenden Anmerkung. Als Nährstoffe für die Mikroorganismen werden neben energiereichen Zuckern und deren Derivaten in vielen Verfahren zusätzlich natürliche Fette und Öl, sowie Dextrate dieser Stoffklassen, wie Glycerin, Glyceride, Fettsäuren oder insbesondere Ammelidung. Als Nährstoffe für die Mikroorganismen werden neben der vorliegenden Anmerkung. Als Nährstoffe für die Mikroorganismen werden neben energiereichen Zuckern und deren Derivaten in vielen Verfahren zusätzlich natürliche Fette und Öl, sowie Dextrate dieser Stoffklassen, wie Glycerin, Glyceride, Fettsäuren oder

Bei der Synthese komplexer Naturstoffe oder sonstiger organischer Verbindungen, beispielsweise Antibiotika, werden zunehmend mikrobiologische Verfahren eingesetzt. Dabei handelt es sich um eine Stoffumwandlung unter anaeroben oder aeroben Bedingungen, bei der Mikroorganismen, oder Teile von Mikroorganismen, insbesondere aber Bakterien oder Pilze beteiligt sind. Für derartige Verfahren werden in der Fachwelt verschiedene, nicht immer klar voneinander abgrenzende Ausdrücke, wie „Bioconversion“, „Biotransformation“ oder „Fermentation“ verwendet. Der letztere Ausdruck wird auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit für solche Verfahren verwendet, bei denen Mikroorganismen, vorzugsweise Bakterien, zur Umwandlung bzw. Synthese von chemischen Verbindungen verwendet werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Mikroemulsionen in Fermentationsverfahren.

Verwendung von Mikromulsionen in Fermentationssverfahren

Bei Fermentationsverfahren spielt außerdem der Sauerstoffgehalt im Medium bzw. der Prozessen die Rolle eines Substrates zu. Entscheidend ist, ob ein für das jeweilige Verfahren ausreichender Sauerstoffübergang von der Gas- in die Flüssigphase, die die Mikroorganismen enthält, stattfinden kann. Ein wichtiger Parameter stellt die spezifische Aussatenschaffa che dar, die in der Regel indirekt über den Sauerstoffübergangskoeffizienten k_L bestimmt wird (vergl. Literaturstelle Crueger, Kapitel 5, Seite 71 ff.). Die Einstellung des optimalen Prozesses die Rolle eines Substrates zu. Entscheidend ist, ob ein für das jeweilige Verfahren Fermentationsverfahren spielt außerdem der Sauerstoffgehalt im Medium bzw. der Prozessen die Rolle eines Substrates zu. Entscheidend ist, ob ein für das jeweilige Verfahren Fermentationsverfahren spielt außerdem der Sauerstoffgehalt im Medium bzw. der

Ausgangsmenge von etwa 60 g/l enthielt.

wäßrigen Medium verwendet werden, darf als einzige Kohlenstoffquelle Rapsöl in von Tylosin, bei dem Mikroorganismen des Stamms *Streptomyces fradiae* in einem Biogenieerung, Vol. 82, No. 2, 183-186, 1996) einen Fermentationsprozess zur Herstellung Verbindungen. Park et al. beschrieben (Park et al., Journal of Fermentation and Fermentation Fettstoffe in der Regel preiswerte sind als Zucker, Stärke und ähnliche Energieleferanten verwendete werden. Dies ist besonders von wirtschaftlichem Interesse, da Es sind aber auch Verfahren bekannt, wo nur Fettstoffe der oben bezeichneten Art als Energieleferanten verwendete werden. Dies ist besonders von wirtschaftlichem Interesse, da

produzierten.

Gegeben war von Fettsäuremethylester die Gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren Energieleferanten und anorganischen oder organischen Sticksäurefetten, sowie in einem wäßrigen Kulturmedium geeignete Mikroorganismen in Gegeben war von Zuckern als Verfahren zur Herstellung von omega-9-mehrfa ch ungesättigten Fettsäuren bekannt, wobei in oder in der das Methyllaurat dem Medium zudosiert wird. Aus der EP 0 535 939 A1 ist ein Schrift ist kein Hinweis auf den Emulsionstyp zu entnehmen, der sich im Fermenter ausbildet anorganische N- und P-Quellen. Dem Medium wird dann das Methyllaurat zudosiert. Der Emulgator ethoxylates Sorbitanmonooleat, Hefeztract, Maisquellwasser sowie Das Medium enthalt, neben den Mikroorganismen als Energieleferant Glucose, weiterhin als einem wäßrigen Medium bei einem pH-Wert von 6,0 und einer Temperatur von 30 °C start. Methyllaurat in die gewünschten Dicarbonäuren umwandeln. Die Umwandlung findet in Alpha-omega-Dicarbonäuren bekannt, wobei Bakterien des Stamms *Candida tropicallis* aus der DE 37 38 812 A1 ist beispielweise ein mikrobielles Verfahren zur Herstellung von aufweisen, die die Metabolisierung der Mikroorganismen negativ beeinflussen können.

Fettsäureester eingestellt. Selbstverständlich dürfen die Kulturmiedien keine Inhaltsstoffe aufwiesen, die die Metabolisierung der Mikroorganismen negativ beeinflussen können.

enthalten, wobei die Emulsionen eine Trockenengroße von 1 bis 50 nm aufweisen.
 b) der Triglycidide Pflanzlichen Ursprungs
 a) der Fettsäuremethylester und/oder
 aus den Gruppen
 Emulgatoren sowie eine Ölphase enthalten und die Ölphase eine oder mehrere Verbindungen
 Fermentationsverfahren beansprucht, wobei diese Emulsionen mindestens Wasser,
 In einer ersten Ausführungsform wird die Verwendung von O/W-Emulsionen in

Emulsionen die obige Aufgabe lost.
 Es wurde gefunden, daß die Verwendung von speziellen, feinteiligen Öl-in-Wasser (O/W)

möglich sein.
 kommt. Vorrätsweise soll eine Erhöhung der Ausbeute trotz Verhinderung Energieentzehrung
 Fermentationsverfahren zu minimieren, ohne daß es zu einer Verhinderung der Ausbeute
 Rührern auftritt. Es sollte eine Weg gefunden werden, den mechanischen Energieentzehrung bei
 anderen ausreichende Versorgung der Mikroorganismen durch
 ist, ohne daß eine unzulässig hohe mechanische Belastung der Mikroorganismen durch
 andererseits eine ausreichende Versorgung der Kohlenstoffquelle einigesetzt werden können und
 verbessem, daß eineresits preiswerte Kohlenstoffquelle einigesetzt werden können so zu
 Der vorliegenden Erfindung lag nun die Aufgabe zugrunde, Fermentationsverfahren so zu

führen kann.
 gleichem Energieentzehrung (Rührern) zu einem Anstieg der Ausbeute des Gesamtverfahrens
 Antibiotika zu einer Verbessezung von Sojaoil in Fermentationsverfahren zur Herstellung von
 bekannt daß die Verwendung von Sojaoil in Fermentationsverfahren zur Herstellung von
 Goma und Rols (G. Goma, J.L. Rols, Biotech. Lett., Vol 13, No. 1, Seiten 7 bis 12, 1991) ist
 der Kultur führen, die eine wirtschaftliche Produktion unmöglich macht. Aus der Arbeit von
 selbst weiter abgebaut und können durch die gebildeten Abbauprodukte zu einer Vergrößerung
 Ausbeute des Verfahrens verhindern. Die abgesetzten Mikroorganismen werden außerdem
 starkes Rührern, wie Park et al. ausführen, auch Teile der Kultur zerstören, und so die
 Gas austausch stattfindet. Allerdings kann der erhebliche mechanische Energieentzehrung durch
 Sauerstoff bzw. die Luft mit der Flüssigkeit vermischt wird und so an den Grenzflächen der

(Substrate) für die durch Biokonversion gewünschten Produkte darstellen können. Im Fermentationsprozeß eingesetzten Bakterien dienen können, die aber auch Ausgangsstoffe sehr gering losliche Verbindungen, die sowohl als Nährstoffe, also Energielieferanten, für die enthalt. Es handelt sich bei den Gruppen a) und b) um hydrophobe, in Wasser nicht oder nur Gruppe der Fettsäuremethylester a) oder der nativen pflanzlichen Öl und deren Derivate b) Gruppe der Fettsäuremethylester a) oder die nativen pflanzlichen Öl und deren Derivate b) Die Mikroemulsionen enthalten, neben Wasser, eine Ölphase, die Verbindungen aus der

angepeilt werden.

Fermentationsverfahrens und können vom Fachmann an die spezifischen Gegebenheiten zu dosierten Emulsion, ergeben sich aus der Art der Mikroorganismen und des gewählten Emulsionen dieses Verfahrens, insbesondere die Geschwindigkeit und Menge der Emulsionen die Mikroorganismen sowie ggf. weitere Hilfs- und Zusatzstoffe enthalt, zu dosieren. Welches die Mikroorganismen werden erfindungsgemäß dem wäßrigen Fermentationsmedium, Die Emulsionen werden erfindungsgemäß dem wäßrigen Fermentationsmedium,

Fermentationsprozeß ermöglicht wird. Fermentationsmedium deutlich zu vertingen wird durch eine Erhöhung der Ausbeute des Fermentationsmediums. In der Folge ist es daher möglich die Rührgeschwindigkeit des Zusatztisch vertingen sich die Viskosität der Emulsion und somit des gesamten Zusatztisch verändert auch der Gas austausch, insbesondere von Sauerstoff und CO_2 , vereinfacht. Oberflächen wird die Mikroorganismen und die Nährstoffe enthaltenen Ölphase. Durch die grobe enthaltene Mikroorganismen und der wäßrigen Phase. Fermentationsmedium so einen schmalen Kontakt zwischen den in der wäßrigen Phase Wasserphase und ermöglicht so eine schnelle Kontakt zwischen den in der wäßrigen Phase

Die Feinheitigkeit der Ölropfchen führt zu einer großen Oberfläche zwischen Öl- und Tropfchengröße im Bereich von 10 bis 50 nm, insbesondere im Bereich von 10 bis 30 nm.

Erfindungsgemäß veränderten Emulsionen beträgt 1 bis 50 nm. Verringrungswise liegt die erfindungsgemäß veränderten Emulsionen beträgt 1 bis 270". Die Tropfchengröße der Chemistry, D.J. Shaw, Butterworth, 1992, Seiten 269 und 270". Die Tropfchengröße der erreichenden. Vergleichbare hierzu die Literaturstelle "Introduction to Colloid and Surface

nichtionischen Tensid weiter Cottenden zu zusetzen, um diese spezielle Emulsionform zu den Wert Null erreicht. In der Regel ist es notwendig, zusätzlich zu mindes tens einem

einmal Mikroemulsion bedingt eine Situation, bei der die Öl-Wasser-Grenzflächenspannung oder einem ionischen Tensid, das verringrungswise zwei hydrophobe Reste enthalt. Die Bildung

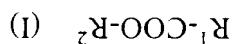
aus zwei miteinander nicht mischbaren Flüssigkeiten und mindes tens einem nichtionischen homogenen, optisch transparenten, häufig niedrigviskose, thermodynamisch stabile Mischungen Es handelt sich dabei um sogennante Mikroemulsionen, die definiert sind als makroskopisch

Die erfindungsgemäß Emulsionen zeichnen sich insbesondere durch ihre Feinheitigkeit aus.

Erdnussöl enthält durchschnittlich (bezoogen auf Fettsäure) 54 Gew.-% Ölsäure, 24 Gew.-% Linoläure, 1 Gew.-% Linolensäure, 1 Gew.-% Arachinsäure, 10 Gew.-% Palmitinsäure, sowie 4 Gew.-% Stearinäure. Der Schmelzpunkt beträgt 2 bis 3 °C. Erdnussöl enthält physiologisch (bezogen auf Fettsäure) 54 Gew.-% Ölsäure, 22 Gew.-% Stearin-, 22 Gew.-% Öl-, 17 Gew.-% Linol- und 52 Gew.-% Linolensäure. Die Iodzahl liegt im Bereich von 155 bis 205. Die Verseifungszahl ist 188 bis 196 und der Schmelzpunkt liegt bei etwa - 20 °C.

Geiengmete Verbrindungen (der Gruppe b) sind native Ole pflanzlichen Ursprungs. Es handelt sich dabei im Wesentlichen um Triglyceridschungen, wobei das Glycerin mit langerketten Fettsäuren jeweils vollständig verestert ist. Besonders geingnete pflanzliche Öle sind ausgewählt aus der Gruppe Erdnuß-, Kokos-, Lein-, Palm-, Oliven-, Palmkern-, Ricinus-, Raps-, Sesam-, Soja- und Sonnenblumenöl.

Methylester der Formel (I) können auf ölbliche Weise erhalten werden, z.B. durch Umesterung von Triglyceriden mit Methanol und anschließender Destillation. Geeignete Fettsäuren sind die Capron-, Heptan-, Capryl-, Perlagon-, Caprin-, Undecan-, Laurin-, Tridecan-, Myristin-, Pentadecan-, Palmitin-, Heptadecan-, Stearin-, Nonadecan-, Arachin- und Behensäure. Ungesättigte Vertreter sind beispielsweise Laurolein-, Myristolein-, Palmitolein-, Petroselaidin-, Öl-, Elaidin-, Ricinol-, Limol-, Limolidin-, Limolen-, Gadolein-, Arachidon und Erucasäure. Auch Mischungen der Methylester dienen siad gelegnet. Besonders bevorzugt ist die Verwendung solcher Mikromulsionen, die Methylester aus der Gruppe Methyloleat, Methylpalmitat, Methyliestarat und/oder Methylpelargonat enthalten. Es kommen beispielweise aus Lein-, Kokos-, Palm-, Palmker-, Oliven-, Ricinus-, Rub-, Sesam-, Soja- oder Sonnenblumenöl (bei Raps- und Sonnenblumenöl jeweils neue und alte Züchtungen) erhalten werden.



Umgegesättigten, linearen oder verzweigten Fettsäuren mit insgesamt 7 bis 23 Kohlenstoffatomen. Es handelt sich also um Verbindungen der Formel (I)

Wichtige Bestandteile der erfindungsgemäß verwendeten Mikromulsioen sind die nüchtiomische Emulgatoren, insbesondere ethoxylierte Tetraalkohole und Fettsäuren eingestzten Emulgatoren bzw. Emulgatorenzytome. Vorzugsweise werden als Emulgatoren eingesetzten Emulgatoren bestandteile der erfindungsgemäß verwendeten Mikromulsioen sind die

aus der Gruppe Kokosöl, Sonnenblumenöl und/oder Rapsöl enthalten. Besonders bevorzugt sind solche Mikromulsioen, die Nährstoffe der Gruppe b), ausgewählt abhängig von der Qualität der Rohstoffe und können daher zahlenmäßig schwanken. Alle objigen Angaben über den Fettsäureanteile in den Triglyceriden sind bekanntemagen Linoläure.

Gew.-% Myristin-, 3 bis 10 Gew.-% Palmitin-, 14 bis 65 Gew.-% Öl- und 20 bis 75 Gew.-% dessen typischen Fettsäurespektrum, bezogen auf Gesamttriglyceride wie folgt aussieht: ca. 1,5 bisessondere Linol- und Linolensäure. Ahnlich ist die Situation beim Sonnenblumenöl, die Glyceride der Palmitin- und Stearinäure enthalten.

Ricinusöl besteht zu 80 bis 85 Gew.-% aus dem Glycerid der Ricinoläure, daneben sind zu etwa 7 Gew.-% Glyceride der Öl-, zu 3 Gew.-% Glyceride der Linol- und zu etwa 2 Gew.-%

Gew.-% und Docosadienäure 1 Gew.-%. Linolensäure 9 Gew.-%, Icosensäure 1 Gew.-%, Palmitinsäure 4 Gew.-%, Hexadecensäure 20 Gew.-%, Linolensäure 63 Gew.-%, Linoläure 20 Gew.-%. Fettsäureanteile sind hier Erucasäure 0,5 Gew.-%, Ölssäure 63 Gew.-%, Linolensäure 20 Gew.-% aus neuer Züchtung ist bezüglich der ungesättigten Anteile angereichert. Typische Rapsöl enthält als Fettsäurekomponenten typische Triglyceride etwa 48 Gew.-% Docosadienäure, 15 Gew.-% Palmitinsäure, 2 Gew.-% Hexadecensäure und 1 Gew.-% Icosensäure. Rapsöl Gew.-% Ölssäure, 14 Gew.-% Linolensäure, 8 Gew.-% Linoläure, 5 Gew.-% Icosensäure, 3 Gew.-% Stearin- 15 Gew.-% Öl- und 1 Gew.-% Linoläure.

Capron/Capryl/Caprin-, 50 Gew.-% Laurin-, 15 Gew.-% Myristin-, 7 Gew.-% Palmitin-, 2 typhischerweise in Bezug auf das Fettsäurespektrum wie folgt zusammengestz: 9 Gew.-% Palmitin-, 5 Gew.-% Stearin-, 41 Gew.-% Öl-, 10 Gew.-% Linoläure. Palmkernöl ist 114, 1985). Palmöl enthält als Fettsäurekomponenten etwa 2 Gew.-% Myristin-, 42 Gew.-% Olivinöl enthält überwiegend Ölssäure (vergl. Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem., 39, 112 bis 114, 1985). Palmöl enthält als Fettsäurekomponenten etwa 2 Gew.-% Myristin-, 42 Gew.-%

Gew.-% Decan-, 45 bis 51 Gew.-% Laurin-, 16 bis 19 Gew.-% Myristin-, 9 bis 11 Gew.-% Palmatin-, 2 bis 3 Gew.-% Stearin-, weniger als 0,5 Gew.-% Behen-, 8 bis 10 Gew.-% Öl- und 1 Gew.-% Linoläure. Die Iodzahl liegt im Bereich von 7,5 bis 9,5, die Versetzungszahl bis 1 Gew.-% Linoläure. Die Iodzahl liegt im Bereich von 7,5 bis 9,5, die Versetzungszahl liegt bei 0,88 bis 0,90. Der Schmelzpunkt liegt bei 20 bis 23 °C.

in der R_3^3 für einen linearen oder verzweigten Alkyrest mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und m für Zahlen von 5 bis 50 und verzweigweise 15 bis 35 steht. Typische Beispiele sind Anlagerringprodukte von 20 bis 30 Mol Ethylenoxid an Laurinsäure, Isotridecanäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmoleinsäure, Stearinäure, Isostearinsäure, Oläure,



kommen, folgen verzweigweise der Formel (III), Fettsäureethoxylate, die ebenfalls als Emulgator oder Emulgatorkomponente in Beiträgen

Kohlenstoffatomen, wie beispielsweise Kokos-, Palm-, Palmkern- oder Talgfettalkohol. Oxosyntthese sowie als Monomerfraktion bei der Dimersierung von ungesättigten Fettsäuren anfallen. Bevorzugt sind technische Fettsäuren mit 12 bis 18 Fettsäurenethoxylate, die z.B. bei der Hochdruckhydrolyse von technischen Fettsäuren aus der Rölein'schen Methylesterm auf Basis von Fetten und Ölen oder Aldehyden aus der Rölein'schen deren technische Mischnungen, die z.B. bei der Hochdruckhydrolyse von technischen Arachyldalkohol, Gadoleylalkohol, Behenylalkohol, Erucylalkohol und Brassidiylalkohol sowie hol, Petroselinylalkohol, Limonylalkohol, Limonanylalkohol, Elaeostearylalkohol, Cetylalkohol, Palmitoleylalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Oleylalkohol, Elaidylalkohol, Ethylhexylalkohol, Caprinalkohol, Laurylalkohol, Isotridecylalkohol, Myristylalkohol, Katalysatoren erhalten. Typische Beispiele sind Capronalkohol, Caprylalkohol, 2-Fettsäuren mit Ethylenoxid unter Druck, ggf. in Gegenwart saurer oder basischer wobei R_3^3 für einen linearen oder verzweigten gesättigten oder ungesättigten Alkyrest mit 6 bis 24 Kohlenstoffatomen steht und n eine Zahl von 1 bis 50 bedeutet. Besonders bevorzugt sind solche Verbindungen der Formel (II), in der n für eine Zahl von 1 bis 35 und insbesondere von 1 bis 15 steht. Besonders bevorzugt sind weiterhin solche Verbindungen der Formel (III), in der R_3^3 für einen Alkyrest mit 16 bis 22 Kohlenstoffatomen steht.



Fettsäurenethoxylate im Sinne der erfundenen Definition folgen der allgemeinen Formel (II)

deren ethoxylierte Analoga;

(III) Alkylimono- und -oligoglycoside mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alkyrest und Ethylenoxidanalogenprodukte;

(II) Glycerinmono- und -diester und Sorbitanmono- und -diester von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen und deren Propylenoxid an lineare Fettsäkohole mit 8 bis 22 C-Atomen;

(I) Anlagerungsprodukte von 2 bis 30 Mol Ethylenoxid und/oder 0 bis 5 Mol der folgenden Gruppen in Frage:

Als weitere geignete Emulgatoren kommen beispielweise niedermonogene Tenside aus einer

gesetz, in der CO_2 für einen linearen Acylrest mit 16 bis 18 Kohlenstoffatomen steht. Mono/Diglyceride mit überwiegendem Monoglyceridanteil der Formel (IV) ein. Mol Ethylenoxid. Vorrangswise werden Monoglyceride bzw. technische Triglyceride sowie deren Addukte mit 5 bis 50 und Vorrangswise 20 bis 30 Stearinäuremonoestermonoestermonoestermonoester, Oläuremonoestermonoester und Stearinäuremonoestermonoestermonoester, Palmitinsäuremonoestermonoester, Stearinäuremonoestermonoester, Kokosfettsäuremonoestermonoester, Partiaglyceride sind Laurin-Typische Beispiele für im Sinne der Erfindung geignete Partiaglyceride sind Laurin- und x, y und z in Summe für 0 oder für Zahlen von 1 bis 50, Vorrangswise 15 bis 35 stehen.



Partiaglyceride, die ebenfalls als Emulgatoren in Betracht kommen, folgen Vorrangswise der Formel (IV),

20 bis 30 Mol Ethylenoxid an Fettsäuren mit 16 bis 18 Kohlenstoffatomen eingestellt. aus der Rötelinsäure Oxosyntese anfallen. Vorrangswise werden Anlagerungsprodukte von der Dicksäure von natürlichen Fetten und Ölen oder bei der Reduktion von Aldehyden Gadolinäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischnungen, die z.B. bei Elaidinsäure, Petroselinäure, Linolensäure, Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachinsäure,

J. Kahrer et al. in *SOFW-Journal Heft 8, 598 (1995)* verwiesen.
 Biermann et al. in *Starch/Stärke 45, 281 (1993)*, B. Salika in *Cosm. Toil. 108, 89 (1993)* sowie
 Stellvertretend für das umfangreiche Schriftum sei hier auf die Überichtsarbeiten von
 nach den einschlägigen Verfahren der präparativen organischen Chemie erthalten werden.
 Zuckerrest mit 5 oder 6 Kohlenstoffatomen und p für Zahlen von 1 bis 10 steht. Sie können
 in der R⁶ für einen Alkyl- und/oder Alkenylrest mit 4 bis 22 Kohlenstoffatomen, G für einen

(V)

R₆O-[G]^p

dar, die der Formel (V) folgen,
 Alkylglycoside. Alkyl- und Alkenylglycoside stellen bekannte nichthöhere Tenside
 Besonders bevorzugt ist die Mitverwendung von Emulgatoren der Gruppe (III), also der

Propylenoxid und Substrat, mit denen die Anlagerungsreaktion durchgeführt wird, entspricht.
 mittlerer Alkoxylengssgrad dem Verhältnis der Stoffmengen von Ethylenoxid und/oder
 im Handel erhältliche Produkte dar. Es handelt sich dabei um Homologengemische, deren
 diester sowie Sorbitanmono- und -diester von Fettsäuren oder an Ricinusöl stellen bekannte,
 Die Anlagerungsprodukte von Ethylenoxid und/oder von Propylenoxid an Glycerinmono- und

(IX) Polyalkylenglycole;
 (VIII) Wollwachsalkohole;

Cellulose);

Pentaeurythrit, Dipentaeurythrit, Zuckeralkohol (z.B. Sorbit) sowie Polyglucoside (z.B.
 Fettsäuren, Ricinoläsure sowie 12-Hydroxystearinsäure und Glycerin, Polyglycerin,
 (VII) Partiellester auf Basis Linoläure, verzweigter, ungesättigter bzw. gesättigter C₁₂₋₂₂-
 Ricinusöl;

(VI) Anlagerungsprodukte von 2 bis 15 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes
 dungen aus mehreren dieser Substanzklassen;
 Polyglycerinpoly-12-hydroxystearat. Ebenfalls geeignete sind Gemische von Verbin-
 (V) Polyol- und insbesondere Polyglycerinester wie z.B. Polyglycerinpolyricinoleat oder
 Ricinusöl;

(IV) Anlagerungsprodukte von 15 bis 60 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes

Die Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside kommen sich von Aldosenen bzw. Ketosenen mit 5 oder 6 Kohlenstoffatomen, vorzugsweise der Glucose abliefern. Die bevorzugten Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside sind somit Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside. Die Indexzahl p in der allgemeinen Formel (V) gibt den Oligomerisierungsgrad (DP), d. h. die Wahrend p in einer gegebenen Verbindung steht für ein bestimmtes Alkenyloligoglykosid eine Werte $p = 1$ bis 6 annnehmen kann, ist der Wert p für ein bestimmtes Alkenyloligoglykosid eine Verbindung von Mono- und Oligoglykosiden an und steht für eine Zahl zwischen 1 und 10. Indexzahl p in der allgemeinen Formel (V) gibt den Oligomerisierungsgrad (DP), d. h. die Analytisch ermittelte rechnerische Größe, die meistens eine gebräuchne Zahl darstellt. Vorzugsweise werden Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside mit einem mittleren Oligomerisierungsgrad p von 1,1 bis 3,0 eingesetzt. Aus anwendungstechnischer Sicht sind solche Alkyl- und/oder Alkenyloligoglykoside bevorzugt, deren Oligomerisierungsgrad kleiner als 1,7 ist und insbesondere zwischen 1,2 und 1,4 liegt. Der Alkyl- bzw. Alkenylerst R' kann sich von primären Alkoholen mit 4 bis 11, vorzugsweise 8 bis 10 Kohlenstoffatomen abliefern. Undecylalkohol sowie deren technische Mischnungen, wie sie beispielsweise bei der Hydrierung von technischen Fettsäuremethylestern oder im Veraluf der Hydrierung von Aldehyden aus der Roelen'schen Oxsyntethse erhalten werden. Bevorzugt sind Typische Beispiele sind Butanol, Capronalkohol, Caprylalkohol, Caprinalkohol und Undecylalkohol sowie deren technische Mischnungen, wie sie beispielsweise bei der Hydrierung von Kohlenstoffatomen, abliefern. Typische Beispiele sind Laurylalkohol, Myristylalkohol, Cetylalkohol, Palmoleylalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Oleylalkohol, Elaidylalkohol, Pertoselinylalkohol, Arachylalkohol, Gadoleylalkohol, Behenylalkohol, Erucylalkohol, Brassidylalkohol sowie deren technische Gemische, die wie oben beschrieben erhalten werden können. Bevorzugt sind Alkenyloligoglycoside auf Basis von gehärtetem C_{12/14}-Kokosalkohol mit einem DP von 1 bis 3. Werden Alkenyglycoside der Formel (V) als Emulgatoren verwendet, kann es vorteilhaft sein, gemeinsame Mengen an Polyhydroxykarbonsäuren, vorzugsweise Zitronensäure, als Formulierungshelfstoffe mit zu verwenden. Üblicherweise werden dann die Polyhydroxyäuren in Mengen von 0,1 bis 3,0 Gew.-% verwendet, vorzugsweise in Mengen von 0,1 bis 1,0 Gew.-%.

In der Regel werden die Mikroemulsionen der wäßrigen Fermentationsbrühe, welche die Mikroorganismen sowie die Sticksstoffquelle und Spurenlemente und ggf. weitere Hilfsstoffe, insbesondere Enzyme, enthält, in geeigneter Weise zudosiert. Als Sticksstoffquelle kommen beispielsweise in Betracht: Pepton, Hefe- oder Malzextrakt, Maisqueelwasser, Hamstoff oder Lecitin. Die Spurenlemente können in Form anorganischer Salze anwesend sein, beispielsweise Natrium- oder Kaliumnitrat, Ammoniumnitrat,

Die beschriebenen Mikroemulsionen können erstmals sogenutzt in Fermentationen ausgestaltungen, z.B. Batch- oder Fed-Batch sowie kontinuierliche Fermentation verwendet werden. Auch sind alle dem Fachmann bekannten Fermentersysteme einsetzbar. Zu den Einzelheiten siehe Cregger, Seiten 50 bis 70. Die Verwendung der Mikroemulsionen ist auch nicht auf bestimte Mikroorganismen begrenzt, vielmehr lassen sich die Emulsionen verfahrensweise ausgestalten, z.B. Batch- oder Fed-Batch sowie kontinuierliche Fermentationen. Allerdings ist die Emulsionierung oder Umwandlung aller dem Fachmann bekannten Fermentationen zu einer Herstellung oder Umwandlung aller dem Fachmann durch Fermentation bekannt. Neben den klassischen Fermentationenverfahren, die überwiegend zu Synthesen von Antibiotika eingesetzt werden, (vergl. a.a.O. Cregger, Seiten 197 bis 242) eignen sich die beschriebenen Emulsionen auch zum Einsatz bei mikrobiellen Transformationen („Biokonversion“), z.B. der Transformation von Sterinen, von Antibiotika und Pestiziden oder der Herstellung von Vitaminen (vergl. Cregger, Seiten 254 bis 273). Bevorzugt ist aber die Verwendung in Fermentationenprozessen zur Herstellung von Antibiotika, beispielsweise Cephalosporinen, Tylosin oder Erythromycin.

Die erfindungsgemäß verwendeten Mikroemulsionen enthalten vorzugsweise von 20 bis 90 Gew.-% Wasser, insbesondere von 30 bis 80 Gew.-% und ganz besonders bevorzugt von 30 bis 60 Gew.-%. Der Rest auf 100 Gew.-% entfällt auf die Ölphase sowie Emulgatoren und weitere Hilfs- und Zusatzstoffe. Die Ölphase selbst ist vorzugsweise in Mengen von 10 ggf. weiteren Mengen enthalten. Insbesondere auf die Ölphase entfällt auf die Ölphase selbige Mengen Emulgatoren und Zusatze, und Zusatzstoffe. Die Ölphase selbst ist vorzugsweise in Mengen von 10 bis 80 Gew.-%, insbesondere von 30 bis 70 Gew.-% und insbesondere von 30 bis 60 Gew.-% enthalten. Dabei entfällt die Ölphase vorzugsweise ausschließlich die Komponenten a) oder b) bzw. Mischungen dieser Komponenten. Besonders bevorzugt ist die Verwendung solcher Emulsionen, die Öl- und Wasserphase im Gewichtsverhältnis von 1 : 1 enthalten. Die Emulgatoren, bzw. Emulgatoren, sind vorzugsweise in Mengen von 10 bis 50 Gew.-%, insbesondere in Mengen von 15 bis 40 Gew.-% und besonders bevorzugt in Mengen von 20 bis 35 Gew.-% enthalten.

Ammoniumsulfat, Eisen sulfat etc. Es kann auch vorteilhaft sein, den Mikroemulsionen selbst weitere Zusatzstoffe, wie Entschäumer oder Sticksstoffquellen zuzusetzen.

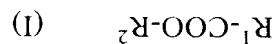
	Gew.-%	Gew.-%	Gew.-%	Gew.-%
Methyloleat	32,44	30,95	29,61	32,35
Methylpalmitoat	32,44	30,95	29,61	32,35
Rubollfettsäuremethylester				
Wascer	34,18	30,24	32,04	34,27
Alkylglycosid	25,3	30,95	31,55	25,22
Glycinolat	7,84	7,62	6,55	7,91
Zitronensäure	0,24	0,24	0,25	0,25
Aussehen	Klar	Klar	Klar	Klar
Tropfchengröße	< 50 nm	< 50 nm	< 50 nm	< 50 nm

Tabelle 1a

Es wurden verschiedene Mikromulsionen durch Mischung der Ausgangsstoffe hergestellt. Die Zusammensetzung sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Tropfchengröße wurde mit einem Coulter N4 Plus Submicron Particle Size gemessen. Der Medianikel betrug 90 μ . Die Emulsionen eignen sich beispielweise als alleinige Nahrstoffquelle für Fermentationen und können direkt der Wäßrigen Fermentationsbrühe zugesetzt werden.

Beispiel

bedeutet,
wobei R_1 für eine Alkylrest mit 6 bis 22 C-Atomen steht und R_2 einen Methylyrest



5. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die in der Ölphase Fettsäuremethylyester der Formel (I) enthalten,

4. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen 30 bis 70 Gew.-% und insbesondere von 30 bis 60 Gew.-% enthalten,
verwendet werden, welche die Ölphase in Mengen von 10 bis 80 Gew.-%, vorzugsweise

3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen bis 80 Gew.-% und insbesondere von 30 bis 60 Gew.-% enthalten,
verwendet werden, die Wasser in Mengen von 20 bis 90 Gew.-%, vorzugsweise von 30

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die eine mittlere Tropfchengröße im Bereich von 10 bis 50 nm, vorzugsweise 10 bis 30 nm aufweisen.

1 bis 50 nm aufweist, in Fermentationsverfahren,
enthält, dadurch gekennzeichnet, daß die Emulsion eine Tropfchengröße im Bereich von

b) der Triglycidide Phanzilichen Ursprungs
a) der Fettsäuremethylyester und/oder

1. Verwendung von O/W-Emulsionen, enthaltend mindestens Wasser, Emulgatoren sowie eine Ölphase, die eine oder mehrere Verbindungen, ausgewählt aus den Gruppen

Patenansprüche

6. Verwendunge nach den Anspülchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die in der Ölphase Methyloleat, Methylpalmität, Methylstearat und/oder Methylpearginat enthalten.

7. Verwendunge nach den Anspülchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die in der Ölphase Kokos-, Sonnenblumen- und/oder Rapsöl enthalten.

8. Verwendunge nach den Anspülchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die als Emulgatoren Alkyloilglycoside enthalten.

9. Verwendunge nach den Anspülchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die 20 bis 90 Gew.-% und vorzugsweise 30 bis 80 Gew.-% insbesondere 30 bis 60 Gew.-% Wasser enthalten.

10. Verwendunge nach den Anspülchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die Emulgatoren in Mengen von 10 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise in Mengen von 15 bis 40 Gew.-% und insbesondere in Mengen von 20 bis 35 Gew.-% enthalten.

Verwendung von O/W-Emulsionen, enthalten mindestens Wasser, Emulgatoren sowie eine Ölphase, die einen oder mehrere Verbindungen enthält, ausgewählt aus den Gruppen wobei die Emulsionen eine mittlere Trockengröße im Bereich von 1 bis 50 nm aufweisen, in Fermentationsverfahren.

- a) der Fettsäuremethylester und/oder
- b) der Triglyceride pflanzlichen Ursprungs

Verwendung von O/W-Emulsionen, enthalten mindestens Wasser, Emulgatoren sowie eine Ölphase, die einen oder mehrere Verbindungen enthält, ausgewählt aus den Gruppen

Zusammenfassung

